

THESIS

MUNICH

1965

Ex

Einfluß von Organhomogenaten auf die Fettsäuresynthese

**In-vitro-Versuch mit Hilfe
eines löslichen Enzymsystems aus Taubenleber**

Ulrike Schwendy

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. W. Seitz

- - - - -

Einfluß von Organhomogenaten auf die

Fettsäuresynthese

In-vitro-Versuch mit Hilfe eines löslichen Enzymsystems
aus Taubenleber

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Ulrike Schwendy
aus
München

München 1965

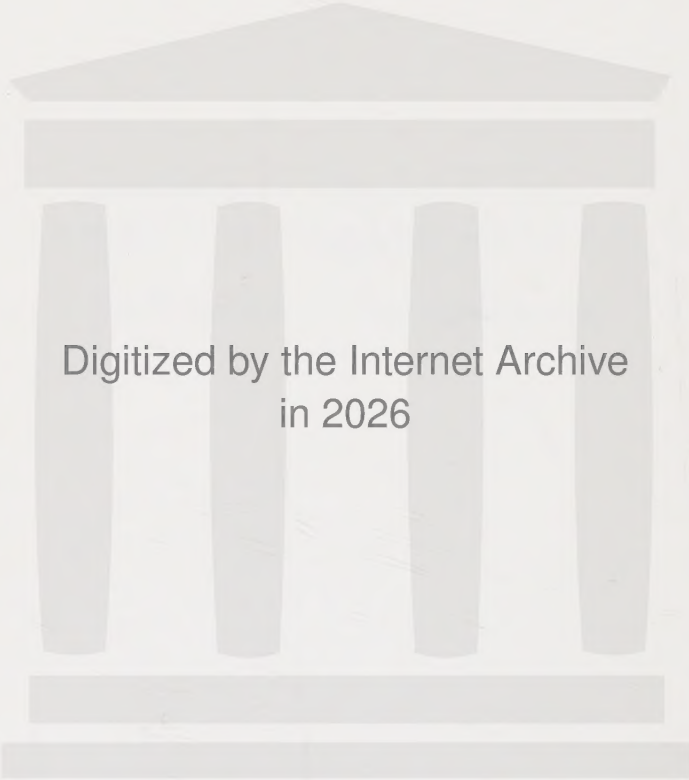
Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Oktober 1964

M e i n e n E l t e r n g e w i d m e t



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153516_0017

E i n l e i t u n g

1. Zum Thema:

Über die Fettsynthese wird auch im Interesse der modernen Ernährungslehre viel gearbeitet. Zahllose Publikationen beschäftigen sich insbesondere mit dem Problem der Hemmung der Fettsynthese. Wir stellten uns zur Aufgabe, auf Grund experimenteller Untersuchungen die Fettsynthese in der Leber der Taube zu verfolgen.

VERA VON BRAND und WALTER SEITZ (1) fanden bei der Anwendung eines von ihnen benützten fettsäuresynthetisierenden Enzymsystems aus Taubenleber eine Fraktion, die nach gewisser Vorbehandlung einen fettsäureaktivierenden Faktor enthielt. Angeregt durch diese Arbeiten und durch eine Versuchsreihe von PETER SCHREIER (2), die einen fettsäuresynthesesteigernden Faktor fanden, der bei der Zubereitung des Fermentsystems der Taube abfiel, befaßten wir uns mit dem Einfluß von Organhomogenaten auf die Fettsäuresynthese. Wir legten uns dabei die Frage vor: Inwieweit wird die Fettsynthese in der Taubenleber durch spezifische Organextrakte wie Milz, Pankreas, Schilddrüse, Herz, Leber, Muskel, Niere, Lunge und außerdem noch durch Blutserum gehemmt. Wir untersuchten bei unseren Arbeiten weniger den Einfluß von Fermenten und deren Hemmung oder Förderung auf die Fettsäureoxydation, sondern anschließend an die Arbeiten von HORST SCHUSTER (3) am Hirn nahmen wir an, daß es einen besonderen Fetthemmstoff geben müsse, dessen Wirkung abhängig von dem Phosphorgehalt der einzelnen Organe und unabhängig von Fermenten ist. Diese Abhängigkeit zu zeigen war das Hauptthema unserer Arbeit.

2. Fettstoffwechsel

Es lassen sich Untersuchungen über den intermediären Stoffwechsel nur in wenigen Fällen am intakten Organismus durchführen, da in den meisten Fällen die Nährstoffe oder Zwischenprodukte bis zu den Endprodukten abgebaut werden. Auch ist dabei kaum eine Aussage darüber zu machen, wie die Stoffwechselleistungen der einzelnen Organe sind. Man ging deshalb dazu über, an isolierten Organen zu arbeiten. Will man die Fettsäuresynthese untersuchen, so eignet sich hierzu besonders die Leber, da in diesem Organ die Fettsäuresynthese vornehmlich abläuft. Wir machten uns die Tatsache zunutze, daß nicht nur die Leber in situ, sondern auch ein aus der Leber gewonnenes Fermentgemisch in vitro Fette zu synthetisieren vermag. In Anlehnung an die An-

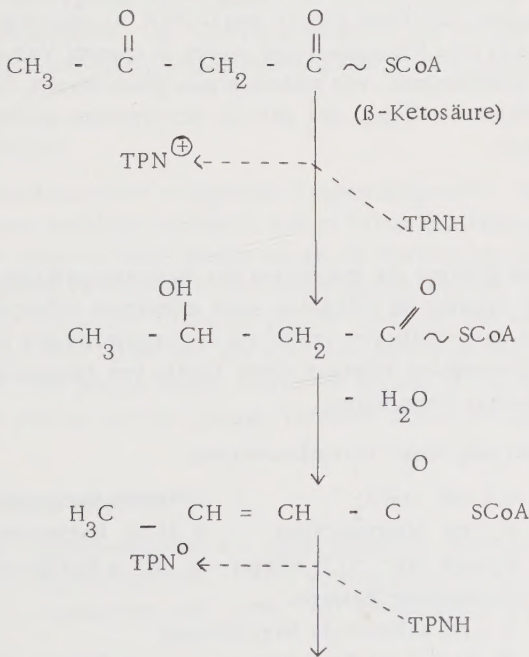
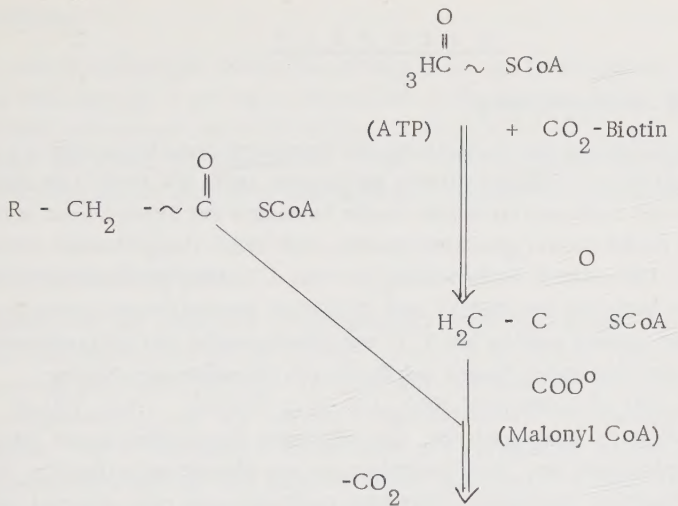
gaben von BRADY und GURIN (4) benutzten wir präpariertes, zellfreies Enzymsystem, welches wir aus der Taubenleber gewannen. Es erhebt sich nun die Frage, wie man die Fettmenge erfassen kann, die bei den Untersuchungen durch die von uns benutzten Zusätze gebildet wurden. Grundsätzlich erfolgt der Fettabbau über mehrere Reaktionsstufen durch die Synthese von C_2 -Fragmenten zu höheren Fettsäuren. Ausgangsprodukt ist das Acetyl-CoA, für welches wir ein radioaktives Natriumacetat einsetzten, wobei das Kohlenstoffatom ein C^{14} -Isotop ist. Dieses Isotop wird beim Fettabbau in die höheren Fettsäuren eingebaut.

Fettabbau: (Formel s. S. 3)

Das Acetyl-CoA lagert unter Wirkung eines spezifischen, biotinhaltigen Enzyms CO_2 zu Malonyl-CoA an. Die Reaktion ist ATP-abhängig und verläuft wahrscheinlich über das Carboxy-Biotin. Im Malonyl-CoA liegt eine besonders aktive CH_2 -Gruppe vor, die leicht mit Acetyl-CoA reagiert. Dabei entsteht unter CO_2 -Abspaltung - die β -Ketosäure. Weiterhin wird die Reduktion der β -Ketosäure und des ungesättigten Acetyl-CoA-Derivates zur gesättigten Verbindung durch eine TPNH-abhängige komplexe Reaktion an einem Enzym bewirkt. Der ganze Vorgang der Kondensation des Acetyl-CoA mit Malonyl-CoA zur β -Ketoverbindung und die Reduktion kann sich wiederholen. Nach LYNNEN (5) spielt er sich an einem Enzymkomplex ab, mit dem die Säuregruppe in Thioester-Bindung verknüpft ist, und erst wenn die endgültige Länge von C_{16} oder C_{18} erreicht ist, wird das Palmityl-CoA freigesetzt. Zum Aufbau der Fette und Phosphorlipide aus Acetyl-CoA-Verbindungen ist noch Glycerin, die Alkoholkomponente notwendig.

Fettabbau:

Der Abbau der Fette beginnt mit der Hydrolyse zu Fettsäure und Glycerin. Der weitere Abbau der Fettsäuren erfolgt durch die β -Oxydation, wozu sie unter Einsatz von ATP zunächst zu dem energiereichen Thioester übergeführt werden. Er verläuft über eine Dehydrierung mittels eines Flavoproteins, eine Wasseranlagerung und nochmalige Dehydrierung zur β -Ketosäure. Durch thioklastische Spaltung wird Acetyl-CoA gebildet und eine kürzere Fettsäure in ihrer aktivierten Form. Der gleiche Abbauweg kann mehrmals vorgenommen werden, bis die lange Kette in C - C - Bruchstücke zerlegt ist.



u. s. w.

M e t h o d i k

Zubereitung der Enzymlösung:

Als Ausgangsmaterial zur Darstellung des Fermentsystems benutzten wir die Lebern reichlich mit Kohlenhydraten gefütterter sechs bis zwölf Monate alter Tauben, da sie in besonders hohem Maße Fermente der Fettsynthese enthalten. Dabei mußte darauf geachtet werden, daß keine Hungertauben verwendet wurden. Die weitere Aufarbeitung der von 4 Tauben gewonnenen Lebern erfolgte nun nach der von BRADY und GURIN (4) beschriebenen Versuchsanordnung. Die Lebern wurden bei 0°C von Bindegewebe und Blutgerinnseln befreit, gewogen und unter Zusatz von Puffer (Pufferzusammensetzung: $0,09\text{ m KH}_2\text{PO}_4 / 0,085\text{ m K}_2\text{HPO}_4 / 0,07\text{ m KHCO}_3$. 1:1:1.) nach Potter - Elvelijem homogenisiert. Das erhaltene Homogenat wurde jetzt 45 Minuten niedertourig bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, danach der durch Abgießen gewonnene Überstand nochmals und zwar diesmal mit 25000 Umdrehungen 75 Minuten lang in der eisgekühlten Zentrifuge hochtourig zentrifugiert. Die nach BRADY und GURIN (4) weiterhin erforderliche Abtrennung durch eine Ultrazentrifuge mußte in unserer Versuchsanordnung mangels dieser unterbleiben. Wir erhielten nun einen klaren, braunroten Überstand (Supernatant - fluid), der alle zur Fettsynthese wichtigen löslichen Fermente enthielt.

Inkubation:

Anschließend erfolgte die Inkubation der Enzympräparationen bei $38^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ im Warburg-Apparat für 3 Stunden unter ständigem Schütteln. Dabei wurden geeichte Warburg-Kölbchen von 20 ml Fassungsvermögen benutzt, in die wir außer der zu testenden Substanz einen Zusatz von Magnesiumchlorid, Natriumcitrat und Acetat hinzufügten.

Zusammensetzung eines Versuchsansatzes:

0,1 ml MgCl_2	=	0,006 m Endkonzentration
0,1 ml Natriumcitrat	=	0,01 m Endkonzentration
0,4 ml Na-1-C ¹⁴ Acetat	=	0,008 m Endkonzentration

Variierende Zusätze:

2,0 ml zubereitete Enzymlösung

Bis zu 0,4 ml Testsubstanz

Von Fall zu Fall nach Versuchsanordnung Zugabe von Wasser, bis die Gesamtmenge 3,0 ml erreicht ist.

Verseifung:

Nach der dreistündigen Inkubation erfolgt dann das Freisetzen der Fettsäuren, wozu man den mit 7 ml Aqua bidestillata nachgespülten Inhalt der Warburg-Kölbchen zusammen mit 5 ml 30%iger alkoholischer Kalilauge, 5 ml Palmitinsäure und einem Siedesteinchen in den Verseifungskölbchen vier Stunden am Rückflußkühler über dem Bunsenbrenner erhitzte und dabei verseifte.

Freisetzen der Fettsäure:

Nachdem wir den gesamten Kölbcheninhalt unter Nachspülen mit Petroläther in die Scheidetrichter gefüllt hatten, gaben wir zu jedem Versuch sechs Tropfen Bromkresylgrün-Methylorange als Indikator und säuerten mit 12 %iger HCL bis zum Farbumschlag an, um aus den Kaliumsalzen der Fettsäuren letztere freizusetzen. Durch viermaliges Extrahieren mit Petroläther wurden die höheren Fettsäuren herausgelöst und isoliert, deren Radioaktivität nach der direkten Methode von ENTEMANN (6) bestimmt wurden. Es wurden zweimal 0,5 ml des die Fettsäuren enthaltenen Petroläthers auf mit sogenanntem "Lenspaper"^{x)} belegte Aluminiumplättchen, die einen Durchmesser von 25 mm hatten, getropft. Dabei wurden bei einem Versuchsansatz vier Proben gegossen.

Messung der Ergebnisse:

Die Messung der Radioaktivität erfolgte im Geigerzählgerät^{y)}. Die Ergebnisse wurden auf einem Standardfolienwert, einem Uranstandardpräparat von bekannter Aktivität, umgerechnet. Ebenso wurde ein Nullwert gemessen und abgezogen. Da für jeden Versuch vier Plättchen gegossen wurden, errechneten wir den Mittelwert. Aus dem Folienwert und der Standardfolie wurde ein Faktor gebildet und mit dem Mittelwert der vier Plättchenwerte abzüglich Nullwert multipliziert. Der jeweils durch Zusatz von Wasser gewonnene Vergleichsansatz wird 100 % gesetzt und die übrigen Versuche darauf bezogen.

Zubereitung der Organhomogenate:

Es wurden von uns Organhomogenate aus Milz, Pankreas, Schilddrüse, Herz, Muskel, Niere und Lunge hergestellt. Dabei verwendeten wir vorwiegend die Organe von Mensch, Kaninchen und Taube. Wir entnahmen Teile eines Or-

x) : (Fa. Josta Klar, München)

y) : (Fa. Friesecke und Hoepfner, Erlangen)

gans, befreiten es von Bindegewebe und Blut, trockneten es in Filterpapier und wogen es ab. Meistens verwendeten wir 10 g des Organs und füllten es dann mit der gleichen Menge Aqua bidestillata (10 ml) auf. Sämtliche Organe wurden in einem hohtourigen Homogenisator (50 000 U/Min.) zerkleinert, wobei die Diffusionsschranken weitgehend beseitigt und die makro- und mikroskopischen Strukturen praktisch vollkommen zerstört wurden. Dadurch wurde es möglich gemacht, die potentiellen Stoffwechselaktivitäten zu messen. Den Vorgang des Homogenisierens dehnten wir nicht länger als ein bis zwei Minuten aus und nahmen ihn in der Kälte vor.(7) Von dem Gewebshomogenat wurde eine bestimmte Menge abpipettiert und vor der Inkubation der Enzymlösung in die Warburgkölbchen beigegeben.

Milz vom Kaninchen:

Versuch Nr. (1013)

0-Wert: 124

Folie: 2062

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Milz

1343

352

100% = 0%

26,1% = 73,9%

Pankreas:

Versuch Nr. (1000)

0-Wert: 112

Folie: 2065

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Pankreas

1330

240

1610

291

100% = 0%

19,1% = 81,9%

Thyreoida:

Schilddrüse des Menschen

Versuch Nr. (1000)

0-Wert: 112

Folie: 2065

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Thyreoida

1330

599

1660

725

100% = 0%

45% = 55%

Versuch Nr. (1002)

0-Wert: 105

Folie: 2091

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Thyreoida

1732

638

2070

764

100% = 0%

36,9% = 63,1%

Schilddrüse des Kaninchens:

Versuch Nr. (988)

0-Wert: 123

Folie: 3026

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Thyreoida

2490

1651

2050

1444

100% = 0%

70,8% = 29,2%

Versuch Nr. (1013) 0-Wert: 124 Folie: 3026

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Thyreoidea</u>
1343	718
100% = 0%	53, 4% = 46, 6%

Herz:

Herz des Menschen:

Versuch Nr. (1004) 0-Wert: 112 Folie: 2065

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Herz</u>
358	84
470	110
100% = 0%	23, 4% = 76, 6%

Herz der Taube:

Versuch Nr. (1000) 0-Wert: 112 Folie: 2065

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Herz</u>
1330	339
1610	410
100% = 0%	25, 5% = 74, 5%

Versuch Nr. (1007) 0-Wert: 135 Folie: 2729

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Herz</u>
2233	534
2130	508
100% = 0%	23, 7% = 76, 3%

Versuch Nr. (1017) 0-Wert: 135 Folie: 1908

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Herz</u>
1534	446
2006	585
100% = 0%	29, 1% = 70, 9%

Versuch Nr. (983)

0-Wert: 105

Folie: 2118

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Herz</u>
1764	1130
<u>2080</u>	<u>1335</u>
100% = 0%	64% = 36%

Versuch Nr. (1024)

0-Wert: 159

Folie: 3084

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Herz</u>
2411	1302
<u>1960</u>	<u>1060</u>
100% = 0%	54% = 46%

Versuch Nr. (1002)

0-Wert: 105

Folie: 2091

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Herz</u>
860	1732
<u>1030</u>	<u>2070</u>
100% = 0%	49,8% = 51,2%

Leber:

Leber des Menschen:

Versuch Nr. (1000)

0-Wert: 112

Folie: 2065

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Leber</u>
1330	362
<u>1610</u>	<u>438</u>
100% = 0%	27,2% = 72,8%

Versuch Nr. (1001)

0-Wert: 71

Folie: 1738

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Leber</u>
469	127
<u>677</u>	<u>138</u>
100% = 0%	27,1% = 72,9%

Versuch Nr. (1006)

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Leber</u>
1924	525
<u>2040</u>	<u>550</u>
100% = 0%	27,3% = 72,7%

Leber der Taube:

Versuch Nr. (1008) 0-Wert: 102 Folie: 2016

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Leber</u>
2789	972
<u>3450</u>	<u>1210</u>
100% = 0%	35% = 65%

Versuch Nr. (1020) 0-Wert: 119 Folie: 2570

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Leber</u>
1656	410
<u>1605</u>	<u>399</u>
100% = 0%	24,9% = 75,1%

Versuch Nr. (1021) 0-Wert: 159 Folie: 2909

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Leber</u>
2460	637
<u>2118</u>	<u>545</u>
100% = 0%	25,7% = 74,3%

Leber vom Kaninchen:

Versuch Nr. (1013) 0-Wert: 124 Folie: 2500

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Leber</u>
1109	561
<u>1343</u>	<u>681</u>
100% = 0%	50,7% = 49,3%

Versuch Nr. (988)

0 - Wert: 123

Folie: 3026

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Leber

2490

750

2050

620

100% = 0%

30, 2% = 69, 8%

Muskel:

Muskel der Taube:

Versuch Nr. (983)

0 - Wert: 105

Folie: 2118

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Muskel

1764

261

2080

359

100% = 0%

19% = 81%

Versuch Nr. (1007)

0 - Wert: 135

Folie: 2729

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Muskel

2233

359

2130

342

100% = 0%

16% = 84%

Versuch Nr. (1024)

0 - Wert: 159

Folie: 3084

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Muskel

2411

594

1960

382

100% = 0%

19, 5% = 80, 5%

Niere:

Niere des Menschen:

Versuch Nr. (988)

0 - Wert: 123

Folie: 3026

2,0 Sup

2,0 Sup

0,4 H₂O

0,4 Niere

2490

1004

2050

830

100% = 0%

40, 5% = 59, 5%

Versuch Nr. (1000) 0-Wert: 112 Folie: 2065

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Niere</u>
1330	969
<u>1610</u>	<u>842</u>
100% = 0%	52, 4% = 47, 8%

Versuch Nr. (1002) 0-Wert: 105 Folie: 2091

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Niere</u>
1732	894
<u>2070</u>	<u>1070</u>
100% = 0%	51, 8% = 48, 2%

Niere des Kaninchen:

Versuch Nr. (1013) 0-Wert: 135 Folie: 2729

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 H₂O</u>
1343	646
<u>100% = 0%</u>	<u>48, 1% = 51, 9%</u>

Lunge:

Lunge des Menschen:

Versuch Nr. (983) 0-Wert: 105 Folie: 2118

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Lunge</u>
1764	693
<u>2080</u>	<u>820</u>
100% = 0%	39, 5% = 60, 5%

Versuch Nr. (100) 0-Wert: 112 Folie: 2065

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Lunge</u>
1330	798
<u>1610</u>	<u>966</u>
100% = 0%	60% = 40%

Versuch Nr. (1007)

0-Wert: 135

Folie: 2729

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Lunge</u>
2233	876
<u>2130</u>	<u>832</u>
100% = 0%	39% = 61%

Lunge der Taube:

Versuch Nr. (1016)

0-Wert: 99

Folie: 1900

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Lunge</u>
1708	879
<u>2249</u>	<u>1150</u>
100% = 0%	51,4% = 48,6%

Versuch Nr. (1017)

0-Wert: 81

Folie: 1908

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Lunge</u>
1534	679
<u>2006</u>	<u>889</u>
100% = 0%	44,2% = 55,8%

Versuch Nr. (1018)

0-Wert: 178

Folie: 2868

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Lunge</u>
1699	755
<u>1479</u>	<u>659</u>
100% = 0%	44,5% = 55,5%

Versuch Nr. (1020)

0-Wert: 119

Folie: 2570

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 H₂O</u>
1656	973
<u>1605</u>	<u>910</u>
100% = 0%	56,9% = 43,1%

Blutserum:

Serum des Menschen:

Versuch Nr. (939) 0-Wert: 108 Folie: 2858

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Serum</u>
4498	3030
<u>3920</u>	<u>2650</u>
100% = 0%	67, 8% = 32, 2%

Versuch Nr. (951) 0-Wert: 109 Folie: 2486

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Serum</u>
2296	1918
<u>2310</u>	<u>1930</u>
100% = 0%	83, 2% = 16, 8%

Versuch Nr. (968) 0-Wert: 79 Folie: 2146

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Serum</u>
1776	1472
<u>2092</u>	<u>1737</u>
100% = 0%	83% = 17%

Serum der Tauben:

Versuch Nr. (980) 0-Wert: 108 Folie: 2386

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Serum</u>
3485	1260
<u>3650</u>	<u>1320</u>
100% = 0%	36, 2% = 63, 8%

Versuch Nr. (984) 0-Wert: 126 Folie: 2516

2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Serum</u>
3830	1112
<u>3799</u>	<u>1000</u>
100% = 0%	26, 4% = 73, 6%

Versuch Nr. (989)

0-Wert: 133

Folie: 2848

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Serum</u>
2886	510
<u>2540</u>	<u>449</u>
100% = 0%	17,7% = 82,3%

DPNH

Leber der Taube:

Versuch: (1020)

0-Wert: 119

Folie: 2570

2,0 Sup	2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Leber</u>	<u>0,4 Leber</u>
1656	410	<u>2 mg DPNH</u>
<u>1605</u>	<u>399</u>	383
100% = 0%	24,9% = 75,1%	<u>372</u>
		23,2% = 76,8%

Lunge der Taube:

Versuch Nr. (1020)

0-Wert: 119

Folie: 2570

2,0 Sup	2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Lunge</u>	<u>0,4 Lunge</u>
1656	937	<u>2 mg DPNH</u>
<u>1605</u>	<u>910</u>	943
100% = 0%	56,9% = 43,1%	<u>919</u>
		57,2% = 42,8%

DPNH allein:

Versuch Nr. (1022)

0-Wert: 165

Folie: 2929

2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 H₂O</u>
3392	<u>2 mg DPNH</u>
<u>2899</u>	3052
100% = 0%	<u>2609</u>
	90,5% = 9,5%

Coenzym A:

Leber des Kaninchens:

Versuch Nr. (979)	0-Wert: 90		Folie: 1835
2, 0 Sup	2, 0 Sup	2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	100 CoA	100 CoA	<u>0, 4 Leber</u>
2436	<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Leber</u>	1129
3314	2882	1249	1540
100% = 0%	3944	1704	46, 4% = 53, 6%
	118, 4% = 18, 4% 51, 3% = 48, 7%		
	Förderung		

A T P:

Versuch Nr. (970)	0-Wert: 105		Folie: 2370
2, 0 Sup	2, 0 Sup	2, 0 Sup	
<u>0, 4 H₂O</u>	1 mg ATP	3 mg ATP	
2871	<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 H₂O</u>	
3024	2913	3029	
100% = 0%	3068	3192	
	101, 8 = 1, 8	105, 6% = 5, 6%	
	Förderung	Förderung	

Versuch Nr. (965)	0-Wert: 105		Folie: 2647
2, 0 Sup	2, 0 Sup	2, 0 Sup	2, 0 Sup
<u>0, 4 H₂O</u>	1 mg ATP	0, 4 Serum	0, 4 Serum
3090	<u>0, 4 H₂O</u>	<u>1 mg ATP</u>	<u>0, 1 H₂O</u>
2850	2752	2337	76% = 24%
100% = 0%	2610	2210	
	91, 5% = 8, 5%	77, 5% = 22, 5%	

Dialyse:

Leber der Taube:

Versuch Nr. (1017)	0-Wert: 81		Folie: 1908
2, 0 Sup	2, 0 Sup	2, 0 Sup	
<u>0, 4 H₂O</u>	<u>0, 4 Leber</u>	0, 4 Leber	
1534	300	dialysiert	
2006	393	<u>bei 38°</u>	
100% = 0%	19, 6% = 80, 4%	327	
		429	
		21, 4% = 78, 6%	

Niere des Menschen:

Versuch Nr. (1008)

0-Wert: 102

Folie: 2016

2,0 Sup	2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Niere</u>	0,4 Niere
2789	881	dialysiert
<u>3450</u>	<u>1100</u>	867
100% = 0%	32% = 68%	<u>1070</u>
		31% = 69%

Lunge der Taube:

Versuch Nr. (1017)

0-Wert: 81

Folie: 1908

2,0 Sup	2,0 Sup	2,0 Sup
<u>0,4 H₂O</u>	<u>0,4 Lunge</u>	0,4 Lunge
1534	679	dialysiert
<u>2006</u>	<u>889</u>	bei 38°
100% = 0%	44,2% = 55,8%	876
		<u>1146</u>
		57% = 43%

Serum des Menschen (3 Wochen alt):

Versuch Nr. (972)

1,9 Sup	1,9 Sup	1,9 Sup
<u>0,5 H₂O</u>	<u>0,1 H₂O</u>	0,1 H ₂ O
2126	<u>0,4 Serum</u>	0,4 Serum
<u>2650</u>	1026	dialysiert
100% = 0%	<u>1280</u>	861
	48,3% = 51,7%	<u>1080</u>
		40,7% = 59,3%

Zusammenstellung der Ergebnisse

Als Nullwert nahmen wir das durch Zusatz von Wasser zu der zubereiteten Enzympräparation gewonnene Ergebnis an. Ließen wir dann z. B. Milzhomogenat des Menschen auf den Fettsäurestoffwechsel einwirken, so stellten wir eine durchschnittliche Hemmung des Fettsäurestoffwechsels von 83,5% fest, d.h., es wurden etwa 83,5% aktives Natriumacetat weniger zum Aufbau höherer Fettsäuren verwendet. In folgender Tabelle sind die durchschnittlichen prozentualen Hemmungen der einzelnen Organe zusammengestellt:

Organ:	Hemmung:
<u>Milz</u> des Menschen	83,5%
Milz vom Kaninchen	73,9%
<u>Pankreas</u> vom Menschen	81,9%
<u>Thyreoidea</u> des Menschen	60 %
Thyreoidea des Kaninchens	27,9%
<u>Herz</u> des Menschen	76,6%
Herz der Taube	73,9% / 44,8%
<u>Leber</u> des Menschen	72,8%
Leber der Taube	71,5%
Leber des Kaninchens	59,6%
<u>Muskel</u> der Taube	81,9%
<u>Niere</u> des Menschen	51,8%
Niere des Kaninchens	51,9%
<u>Lunge</u> des Menschen	53,8%
Lunge der Taube	50,8%
<u>Serum</u> des Menschen	22 %
Serum der Taube	73,2%

Cofaktoren:

DPNH:

Hemmung

(2mg DPNH + 0,4 H ₂ O + 2,0 Sup) DPNH	9,5%
Leber der Taube	75,1%
Leber + DPNH	76,8%
Lunge der Taube	42,8%
Lunge + DPNH	42,8%

Coenzym-A:

Förderung

Hemmung

CoA (2,0 Sup, 100 CoA, 0,4 H ₂ O)	18,4%	
Leber des Kaninchens		53,6%
Leber + CoA		48,7%

ATP:

ATP (2,0 Sup, 1mg ATP, 0,4 H ₂ O)	1,8%	
ATP (2,0 Sup, 3mg ATP, 0,4 H ₂ O)	5,6%	
ATP (2,0 Sup, 1mg ATP, 0,4 H ₂ O)		8,5%
Serum des Menschen		24 %
Serum + 1mg ATP		22,5%

Dialyse:

Leber der Taube	80,4%
Dialysierte Leber der Taube	78,6%
Niere des Menschen	68 %
Dialysierte Niere des Menschen	69 %
Lunge der Taube	55,8%
Dialysierte Lunge der Taube	43 %
Serum des Menschen	51,7%
Dialysiertes Serum des Menschen	59,3%

D i s k u s s i o n

Bei der Durchsicht unserer Versuche fiel uns auf, daß das Milzhomogenat auf die Fettsäuresynthese eine besonders starke Hemmung ausübt. Da auch das Gehirn, dessen Wirkung auf den Fettstoffwechsel von Schuster eingehend untersucht wurde, eine ähnlich starke Hemmung hervorrief, glauben wir sagen zu können, daß die Beeinträchtigung der Fettsäuresynthese möglicherweise mit dem hohen Phosphorgehalt dieser Organe zusammenhängt. Auch bei den übrigen Organen konnte sich eine Abstufung der Hemmwirkung der Organhomogenate hinsichtlich des Phosphorgehaltes feststellen lassen.

Phosphorgehalt in g (15)
(100 g enthalten:)

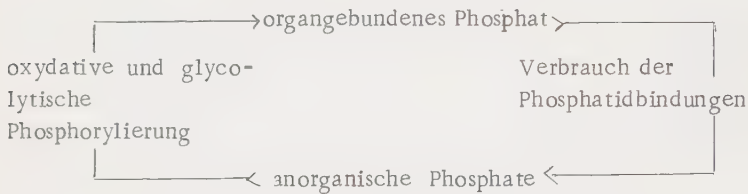
Hemmung des Organhomogenates:

Gesamtphosphorgehalt
des Erwachsenen:

	1,16 g		
Gehirn	0,38 g		
Milz	0,38 g	Milz (Mensch)	83,5 ‰
		(Kaninchen)	73,9 ‰
Pankreas	0,34 g	Pankreas (Mensch)	81,9 ‰
Thyreoidea	0,34 g	Thyreoidea (Mensch)	60,0 ‰
		(Kaninchen)	27,9 ‰
Herz	0,27 g	Herz (Mensch)	76,6 ‰
		(Taube)	73,9 ‰
Muskel	0,22 g	Muskel (Taube)	81,9 ‰
Leber	0,21 g	Leber (Mensch)	72,8 ‰
		(Taube)	71,5 ‰
		(Kaninchen)	59,6 ‰
Niere	0,14 g	Niere (Mensch)	51,8 ‰
		(Kaninchen)	51,9 ‰
Lunge	0,12 g	Lunge (Mensch)	53,8 ‰
		(Taube)	50,8 ‰

Nach OPPENHEIMER (8) geht der Phosphatidgehalt der Organe mit dem Umfang der Vielseitigkeit ihrer physiologischen Leistung parallel, d.h. der Phosphatidgehalt der homogenen Gewebe der verschiedenen Tierarten soll dem Grundumsatz dieser Tierarten proportional sein. Außerdem hat das Fettsäuregemisch der Phosphatide bei allen Wirbeltieren annähernd die gleiche Zusammensetzung.

Heute wissen wir, daß dem Phosphorstoffwechsel im Energiehaushalt der Zelle eine ausschlaggebende Rolle zukommt. Die Überführung von anorganischem Phosphat in organische Bindungen ist derjenige Vorgang, welcher der Zelle die Ausnutzung der freien Energie der Nährstoffe gestattet.



(LEUTHARDT (9)).

Bekanntlich ist der Phosphor einmal am Aufbau der Nucleinsäuren beteiligt, die für den Aufbau der Zellkerne entscheidend wichtig sind, zum anderen wissen wir aber, daß Phosphorverbindungen als Energieüberträger bei wahrscheinlich allen wichtigen Stoffwechselprozessen in irgendeiner Weise beteiligt sind. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER (7) teilt die Phosphorsäureverbindungen im lebenden Gewebe folgendermaßen ein:

1. säurelösliche Fraktion
2. Lipidfraktion
3. Nucleinsäuren
4. phosphorhaltige Proteide

Obwohl eine Differenzierung in dieser Hinsicht möglich ist, konnten wir bei unseren Versuchsmöglichkeiten keine weitere Differenzierung vornehmen.

Bei Zugabe von Coenzym-A, Diphosphopyridinnucleotid und Adenosintriphosphat, sowohl zu dem Enzymsystem der Taubenleber allein als auch nach Zusetzen von Leberhomogenat und Serum zeigte sich keine wesentliche Beeinflussung der Fettsäuresynthese durch oben angegebene Cofaktoren. Diese Cofaktoren hatten also keinen Einfluß auf die hemmende Wirkung der Organhomogenate, wenn sie zugesetzt wurden. Bei Reinigung des zugesetzten Homogenates mittels Dowex und Tierkohle von Diphosphopyridinnucleotid und Adenosintriphosphat konnte sich eher eine geringe Hemmung bemerkbar machen.

Über den Einfluß von verschiedenen Substanzen auf die Fettsynthese von Taubenlebern gibt uns die Arbeit von V. v. BRAND und E. HELMREICH (10) Auskunft, in der sie die Beziehung der Glycolyse zum Fettstoffwechsel mit Hilfe eines durch hochtouriges Zentrifugieren von Taubenleberhomogenaten gewonnenen Überstandes aufdeckten. Sie konnten feststellen, daß Magnesiumionen das Enzymsystem aktivierten, Natriumcitrat anaerob und aerob die Fettsynthese förderte und L-Cystein keinen Einfluß auf die Fettsynthese hatte. Es ergab sich, daß durch Mitochondrientrockenpulver die Fettsynthese nicht fördernd beeinflusst wird, ja daß sie manchmal gehemmt wird. Fernerhin führten Pyridinnucleotide zur Aktivitätssteigerung. Dabei ist zu bemerken, daß die Enzyme fest an die Mitochondrienstruktur gebunden sind. Mitochondrien sind reich an Lipiden, vor allem an Phosphorlipiden. Diese Stoffe sind am Aufbau der Membran beteiligt. Sie bilden wahrscheinlich die Mittelschicht, während die Außen- und Innenlamelle aus Proteinen besteht.

Nach LEUTHARDT (9) ist es noch immer fraglich, ob es ein Hormon gibt, das den Fettstoffwechsel in spezifischer Weise beeinflussen kann. Jedoch wird, wie der gesamte intermediäre Stoffwechsel, auch die Umsetzung der Fette von verschiedenen Hormonen beeinflusst.

MARTIUS (11) hat gefunden, daß das Schilddrüsenhormon in vitro auf die Atmungskette einwirkt. Es entkoppelt die oxydative Phosphorylierung. Er erklärt sich die stoffwechselsteigernde Wirkung damit, daß durch die Entkopplung die gesamte Stoffwechselintensität steigen muß, da die Regulation der Atmungskette durch Adenosintriphosphorsäure wegfällt. Es ist jedoch nach KARLSON (12) noch nicht gesichert, ob es sich bei der Entkopplung um die Schädigung der Mitochondrien handelt. Damit ließe sich vielleicht die relativ geringe Hemmwirkung von Schilddrüsenhomogenat auf die Fettsäuresynthese erklären.

Man fand verschiedene Stoffe, zu denen Cholin, Casein und Methionin gehören, welche die Fettanhäufung in der Leber verhindern, oder, wenn dieselbe schon eingetreten ist, sie zum Verschwinden bringen. Diese Wirkung bezeichnet man als "lipotrop". Der wichtigste lipotrop wirksame Stoff, das Cholin, ist ein Bestandteil von Phosphatiden. Cholinphosphatide befinden sich in den Geweben und im Blut, und es ist möglich, daß durch diese Stoffe die Fettsäuresynthese beeinflusst werden könnte.

BEST (13) hatte die Auffassung, daß die lipotrope Wirkung von Pankreasextrakten auf ihren Gehalt an bekannten lipotropen Faktoren, z. B. Cholin, Methionin und Vitamin B₁₂ oder einem unspezifischen Eiweißeffekt beruht. Jedoch konnte DRAGSTEDT (14) durch vergleichende Untersuchungen mit Leber-, Gehirn- und Speicheldrüsenextrakten, die mindestens ebensoviel

Cholin und Methionin enthielten wie das Pankreaspräparat, feststellen, daß sich diese drei Organextrakte im Versuch am pankreatektomierten, insulin-eingestellten Hund als unwirksam erwiesen. Nach DRAGSTEDT (14) verhindert Cholin erst in großen Dosen die Leberverfettung pankreatektomierter Hunde. Er ist außerdem der Ansicht, daß das Pankreas eine hormonähnliche Substanz bildet, Lipocaic genannt, welches für den Fettstoffwechsel nötig ist. Die totale Entfernung des Pankreas führt bei insulineingestellten Hunden zu einem Syndrom, das durch folgende Zeichen charakterisiert ist:

Starker Gewichtsverlust, Absinken der Aktivität der alkalischen Serumphosphate, Absinken des Insulinbedarfes, Steigerung der Empfindlichkeit gegenüber Insulin, Schwund des Körperfettes, Abfall der Blutlipidwerte und degenerative Verfettung der Leber mit Beeinträchtigung der Leberfunktion.

Um die Teilchengröße des hemmenden Faktors unserer Homogenate zu bestimmen, nahmen wir eine Dialyse des Organhomogenates vor. Die Dialyse dient außer zur präparativen und technischen Trennung von kolloid- und molekular-dispersgelösten Systemen auch zur Analyse von Stoffen im gelösten Zustand und zwar zur Bestimmung des wahren Teilchengewichtes echt gelöster Stoffe auf Grund der Beziehungen zwischen Molekular bzw. Ionengewicht und Geschwindigkeit der Dialyse (7). Bei der halbstündigen Dialyse von Homogenaten von Leber, Niere, Lunge und Serum mit Hilfe einer künstlichen Cellulosemembran bei 38° C in bewegtem Aqua destillata, konnten wir bei Zugabe des dialysierten Homogenates zum fettsäuresynthetisierenden Enzymsystem eine gleiche Hemmung der Fettsäuresynthese feststellen, wie bei Zugabe des nicht vorbehandelten Homogenates oder Serums. Ein kleinmolekularer Stoff wäre bei unseren Versuchsergebnissen als hemmender Faktor auszuschließen.

Alle im Vorangehenden erhaltenen Versuchsergebnisse, die durch Zusatz von Organhomogenaten zu dem fettsäuresynthetisierenden Fermentsystem gewonnen wurden, zeigen eine mehr oder weniger starke Hemmung der Fettsäuresynthese. Wir versuchten der hemmenden Substanz durch Zugabe von Cofaktoren, wie Coenzym-A, Diphosphopyridinnucleotid und Adenosintriphosphorsäure und eine Größenbestimmung mittels Dialyse näherzukommen. Immerhin auffällig ist die stark hemmende Wirkung auf die Fettsäuresynthese jener Organhomogenate, die einen relativ hohen Gesamtphosphorgehalt aufzuweisen haben. Jedoch war uns eine Sicherung dieser Aussage nicht möglich.

Zusammenfassung

I. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Organhomogenaten des Menschen, der Taube und des Kaninchens untersucht. In allen Fällen konnte eine Hemmung der an einem Enzymsystem der Taubenleber untersuchten Fettsynthese festgestellt werden. Es ergaben sich folgende durchschnittliche prozentuale Hemmungen der einzelnen Organe:

a) Milz des Menschen:	83,5 %
Milz vom Kaninchen:	73,9 %
Pankreas vom Menschen:	81,9 %
Thyreoidea des Menschen:	60,0 %
Thyreoidea des Kaninchens:	27,9 %
Herz des Menschen:	76,6 %
Herz der Taube:	73,9 % bzw. 44,8 %
Leber des Menschen:	72,8 %
Leber der Taube:	71,5 %
Leber des Kaninchens:	59,6 %
Muskel der Taube:	81,9 %
Niere des Menschen:	51,8 %
Niere des Kaninchens:	51,9 %
Lunge des Menschen:	53,8 %
Lunge der Taube:	50,8 %

b) Das Serum des Menschen hatte eine durchschnittliche 22%ige, das Serum der Taube eine durchschnittliche 73,2%ige hemmende Wirkung auf die Fettsäuresynthese.

II. Mittels Dialyse konnten wir einen kleinmolekularen Stoff als hemmenden Einfluß der Organhomogenate und Blutserum auf die Fettsäuresynthese ausschließen.

III. Bei Zusetzen von Cofaktoren, wie Coenzym A, Diphosphopyridinnucleotid und Adenosintriphosphat, ergab sich, daß sie keinen Einfluß auf die hemmende Wirkung der Organhomogenate hatten. Die Reinigung des zugesetzten Homogenates von Diphosphopyridinnucleotid und Triphosphopyridinnucleotid ergab eher eine geringere Hemmung der Fettsäuresynthese.

IV. Die Abhängigkeit des Ausmaßes der Hemmung der Fettsäuresynthese zum Gesamtphosphorgehalt der einzelnen Organe wurde diskutiert.

Literaturverzeichnis

- (1) v.Brand, V., Seitz, W. Über einen die Fettsäuresynthese steigern-
den Faktor.
Kl.Wochschr. 36. Jg. 2. Heft, Jan.1958,
S. 87/88
- (2) Schreier, P. Die Abhängigkeit der Fettsäuresynthese
von einem Faktor der Leber.
Inaugural-Dissertation aus d. Med.Poli-
klinik d. Universität München (1960).
- (3) Schuster, H. Untersuchungen über einen die Fettsäure-
synthese hemmenden Stoff aus Hirnhomo-
genaten von Mensch, Taube und Kaninchen
(1964).
- (4) Brady, R.O., Gurin, S. J. of Biol. Chem. 199 421 (1952)
- (5) Lynen, F. Participation on of Acyl - CoA in Carbon
chain Biosynthesis. J. Cellular Comp.
Physiol. 54 Suppl. 1 (1959) S. 33-49
- (6) Entemann, C., Lerner, S.R., Proc. Soc. Expr. Biol. 9 med.70, 364
Chaikoff, J.L. and Dauben, W.G. (1949)
- (7) Hoppe - Seyler / Thierfelder Handbuch der physiologischen und path.
chem. Analyse.
- (8) Oppenheimer Biochemie, Ergänzungswerk 3 (1936)
- (9) Leuthardt, F. Lehrbuch der Physiologischen Chemie
(1957)
- (10) v.Brand, V., Helmreich, E. Biochem. Zeitschrift, Bd. 328, S. 146
- (11) Martius, C. Der Wirkungsmechanismus der K-Vitamine.
Dtsch.med. Wochenschrift 83 (1958).
- (12) Karloson, P. Kurzes Lehrbuch der Biochemie (1961).
- (13) Best, C.H., Ferguson, C.C., Cholin and liver fat in diabetic dogs.
v.Hershey, J.M. J. Physiol. 79 S. 94 (1933)

- (14) Dragstedt, L.R., Clarke, J.S. Relation of the pancreas to the
Hlavacek, G.R. and Harper, P.V. regulation of the blood lipids.
Amer.J.Phys. 179, Nr. 3,
S. 439-450 (1954)
- (15) Documenta Geigy Wissenschaftliche Tabellen
6. Auflage (1960)

Herrn Professor Dr. W. Seitz sei an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, die Beratung und die Beurteilung der Arbeit gedankt.

Für die Korrektur der Niederschrift darf ich Frau Dr. Vera v. Brand - N a g e n g a s t Dank sagen.

Herrn Dr. med. Horst Schuster spreche ich meinen Dank für kollegiale Mitarbeit aus.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen Frä. Ingrid Thörnig und Frä. Heidi Wilde bin ich nicht zuletzt für ihre tatkräftige Unterstützung zu Dank verpflichtet.

L e b e n s l a u f

Am 21.8.1939 wurde ich, Ulrike Schwendy, als Tochter des Arztes Dr. Jürgen Schwendy und seiner Ehefrau Karoline in Dresden geboren. Ich besuchte in Dresden die Volksschule. Nach einer darauffolgenden Oberschulzeit legte ich 1957 an der Kreuzschule in Dresden das Abitur ab. Ich siedelte noch im gleichen Jahr in die Bundesrepublik über und bestand im Jahre 1958 die Ergänzungsprüfung und hatte hiermit die Berechtigung zum Studium an den Universitäten in der Bundesrepublik. Mein Studium führte mich für zwei Semester nach Heidelberg und ich bestand das Vorphysikum. Seit dem Sommer 1959 war ich an der Münchner Universität immatrikuliert, wo ich 1960/61 das ärztliche Vorexamen ablegte. Auch mein klinisches Studium verbrachte ich in München. 1964 beschloß ich mein ärztliches Studium mit dem Staatsexamen.

